

Н.В. Ромаданова<sup>1</sup>, Л.Н. Карашолакова<sup>1, 2</sup>, И.А. Махмутова<sup>1</sup>, М.Ю. Ишмуратова<sup>3</sup>,  
Л.А. Копыткова<sup>4</sup>, Ф.Д. Кабулова<sup>5</sup>, С.В. Кушнаренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, Алматы, Казахстан;

<sup>2</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан;

<sup>3</sup>Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова, Казахстан;

<sup>4</sup>АО «Лесной питомник», п. Актогай, Алматинская область, Казахстан;

<sup>5</sup>Самаркандский государственный университет им. Алишера Навои, Узбекистан  
(E-mail: nata\_romadanova@mail.ru)

## Сохранение генетического материала некоторых видов барбариса в криобанке

В результате работ по введению в культуру *in vitro* и микроклональному размножению создана коллекция *in vitro* растений барбариса, состоящая из 41 образца. Полученная коллекция *in vitro* заложена на среднесрочное хранение (хладохранение) при температуре 4 °С. Максимальная продолжительность хладохранения составляет 12 месяцев. Семена барбариса помещены в криобанк при температурах –196 °С и –20 °С. Способность семян к прорастанию после хранения в течение 2 лет при низкой и сверхнизкой температурах в среднем по образцам составляет 86,7 %. Не выявлена статистически достоверная разница всхожести свежесобранных семян и семян после хранения при температурах –20 °С и –196 °С у всех изученных образцов барбариса. Отмечено, что процент всхожести семян, хранившихся при низких температурах, несколько выше процента всхожести свежесобранных семян. Созданный криобанк семян барбариса послужит надежным хранилищем генетического материала этого ценного пищевого и лекарственного растения.

*Ключевые слова:* *Berberis*, семена, коллекция *in vitro*, криобанк, народная медицина.

### Введение

Барбарис — уникальное растение, являющееся огромным кладезем полезных веществ, обладающее множеством лечебных качеств. Известно около 500 видов растений этого рода, распространенных в Европе, Азии и в Северной Америке. В Казахстане произрастает *Berberis iliensis* M. Pop. в ущельях восточной части Заилийского Алатау, Кетменского хр., Джунгарского Алатау, в устьях рек Чилик, Чарын, впадающих в р. Или; *Berberis integerrima* Bunge — в Тянь-Шане, Памиро-Алтае, Каратау; *Berberis karkaralensis* Kornilova et Potarov — в Каркаралинских горах, в массиве Кент; *Berberis kashgarica* Rupr. — в Тянь-Шаньских горах; *Berberis nummularia* Bunge — в прибалхашских пустынях долины р. Или, в Джунгарском Алатау, Тянь-Шани, Памиро-Алтае; *Berberis oblonga* (Regel) C.K. Schneid. — в ущельях Тянь-Шаня; *Berberis sibirica* Pall. — Алтай и Джунгарский Алатау; (*Berberis sphaerocarpa* Kar. Et Kir., синонимы: *Berberis bykovianus* Pavl. и *Berberis heteropoda* Schrenk — в Алтае, Тарбагатае, Зайсане, Чу-Илийских горах, в Джунгарском, Заилийском и Кунгей Алатау [1].

Полезные свойства барбариса известны человеку не одну тысячу лет. Ягоды барбариса используются в народной медицине для лечения широкого спектра заболеваний. Имеется достаточное количество зарубежной литературы, где авторами приводятся полученные результаты о положительном влиянии фармацевтических препаратов на основе барбариса. Эти препараты используются при лечении рака, сахарного диабета, ишемии мозга, сердечно-сосудистых заболеваний, бактериальных, вирусных, паразитарных поражений, а также обладают спазмолитическими свойствами при холециститах, оказывают гипотензивное действие, усиливают сократительную способность матки, стимулируют действие системы свертывания крови и других [2-6].

На данный момент складывается неблагоприятная обстановка с сокращением массивов тугайных лесов в пойме реки Или и ее притоков. Основную массу таких лесов составляет барбарис илийский. Барбарис каркаралинский также находится в критическом состоянии, его популяции фрагментированы, хотя он произрастает на защищённых территориях в Центральном Казахстане. Два этих вида уже сейчас занесены в Красную книгу Казахстана, в ближайшее время другие виды барбариса могут оказаться под угрозой исчезновения [7, 8].

Принимая во внимание все полезные свойства барбариса, отмеченные еще нашими предками, важно изучить и сохранить его уникальные виды, которые находятся под угрозой исчезновения. Решением проблемы сохранения послужит культивирование редких и исчезающих видов в коллекциях *in vitro* при температуре +24 °С и при пониженных температурах +4 °С (хладохранение); сохранение

семян при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ ; а также криоконсервация при температуре  $-196^{\circ}\text{C}$  в жидком азоте семян и апикальных меристем [9–11]. Генетические банки сберегают семена растений в защищенных местах по всему миру. Образцы хранятся в течение долгого периода времени, длительность хранения возможна и тысячи лет.

Апикальные меристемы и семена барбариса, сохранённые в криобанке, и растения *in vitro*, заложенные на хранение, послужат для проведения широкого спектра биологических и медицинских исследований. В первую очередь это касается разработки надежной методологии сохранения генетических ресурсов, особенно редких и исчезающих видов с дальнейшей реинтродукцией в естественные места обитания, а также для создания маточников в питомниках, заказниках и др. Созданная криоколлекция может быть использована в селекционном процессе по улучшению существующих и созданию новых сортов, а также для международного обмена генетическими ресурсами [9–10].

Целью данной работы является сохранение побегов барбариса *in vitro* при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$  (хладостранение), сохранение семян при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  и  $-196^{\circ}\text{C}$ .

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись 66 образцов барбариса: барбарис амурский (*B. amurensis*), 19 форм барбариса илийского (*B. iliensis*), 27 форм барбариса цельнокрайнего (*B. integerrima*), 2 формы барбариса продолговатого (*B. Oblonga*), барбарис сибирский (*B. Sibirica*), 15 форм барбариса круглоплодного (*B. Sphaerocarpa*) и барбарис Тунберга (*B. Thunbergii*). Данные по сбору растительного материала барбариса приведены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Образцы барбариса, место сбора, высота над уровнем моря

Формы барбариса	Место сбора, год	Высота над уровнем моря, м
<i>B. amurensis</i>	Из коллекции Карагандинского государственного университета собран в Алтайском ботаническом саду, 2013	819
<i>B. iliensis</i>		
1	Пойма р. Чарын, Чарынский национальный парк, 2014.	1224
2	Пойма р. Или, с. Баканас, 2014.	388
3–8, 10–12	Пойма реки Или, ущ. Кербулак, 2014, 2015.	424–492
9	АО «Лесной питомник», п. Актогай, 2015.	1410
13–19	Пойма р. Узын, ущ. Узын Каргалы, 2016	1990–2009
<i>B. integerrima</i>		
1–22	Пойма р. Зеравшан, Зеравшанский заповедник, 2014.	831–853
23–27	Туркестанская область, Толебийский район, Сайрам-Угамский национальный парк (СУНП), ущ. Каскасу, 2015	1426–1434
<i>B. oblonga</i>		
1–2	Пойма реки Зеравшан, Зеравшанский заповедник, 2014	712–723
<i>B. sibirica</i>	АО «Лесной питомник», п. Актогай, Алматинская область, 2015	1410
<i>B. sphaerocarpa</i>		
1–9	Пойма р. Большая Алматинка, ущ. Алмарасан, 2015.	1403–1410
10	Алтайский ботанический сад, 2015.	815
11–15	Заилыйский Алатау, ущ. Иссык, 2015	1689–1770
<i>B. thunbergii</i>	Алтайский ботанический сад, 2014	822

Для сохранения гермоплазмы барбариса использовали:

1. Семена, которые сохраняли при двух температурных режимах: а)  $-20^{\circ}\text{C}$  — семена по 40–200 шт. запаковывали в пакеты из ламинированной фольги и закладывали на долгосрочное хранение в морозильную камеру; б)  $-196^{\circ}\text{C}$  — семена по 20–100 шт. погружали в криобирки и закладывали на долгосрочное хранение в Дьюары с жидким азотом в криогенный банк. Опыт проводили в 3 повторностях ( $n = 60$ ). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике, описанной в пособии Г.Ф. Лакина и в программном пакете SYSTAT [12, 13].

2. Апикальные меристемы, изолированные из асептических побегов *in vitro*. Методика криоконсервации методом PVS2 витрификации подробно описана в статье Н.В. Ромадановой с соавтора-

ми [14]. Для криосохранения использовали 20 апексов побегов. Опыт проводили в 3 повторностях ( $n = 60$ ), используя статистическую обработку экспериментальных данных [12, 13].

3. Хладохранение побегов *in vitro* барбариса. Среднесрочное сохранение побегов проводили в специализированных полиэтиленовых пакетах или культуральных сосудах при температуре 4 °С, освещенность 10  $\mu\text{мол}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , фотопериод 16/8 ч на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с 20 г/л сахарозы, 0,8 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,02 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК), 1,75 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В результате работ по введению в культуру *in vitro* и микрклональному размножению создана коллекция *in vitro* растений барбариса, состоящая из 41 образца [15–17] (рис. 1 А). Полученная коллекция *in vitro* заложена на среднесрочное хранение (хладохранение) при температуре 4 °С, освещенность 10  $\mu\text{мол}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , фотопериод 16/8. Максимальная продолжительность хладохранения составляет 12 мес. (рис. 1 Б), после чего растения следует пересадить на свежие питательные среды.

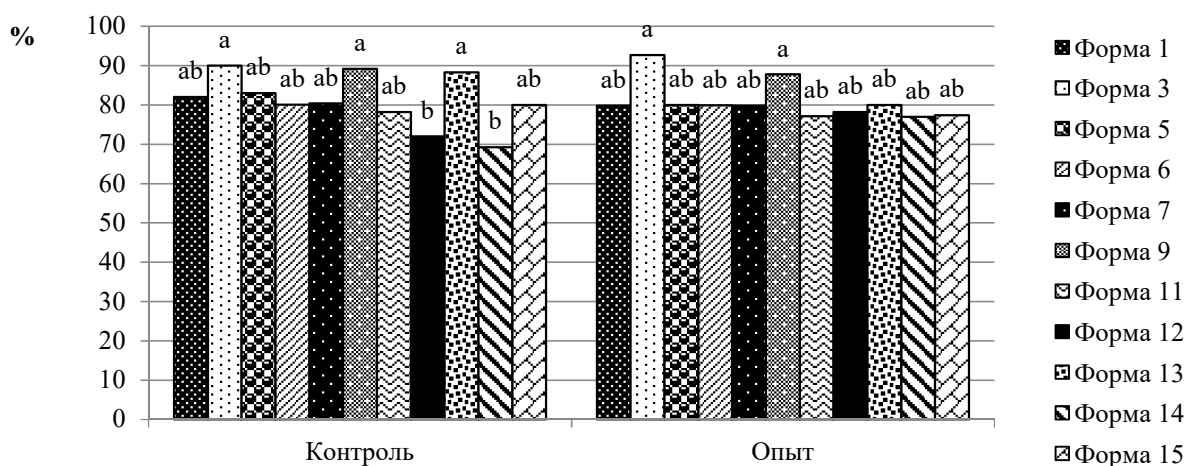


А — в светокультуральной комнате, в культуральных сосудах на питательной среде: МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 1,25 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7, температурный режим: 24 °С, освещенность 40  $\mu\text{мол}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , фотопериод 16/8 ч.;  
Б — в холодильнике, в полиэтиленовых пакетиках на питательной среде МС: с добавлением 20 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 1,25 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7; температурный режим: 4 °С, освещенность 10  $\mu\text{мол}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , фотопериод 16/8 час, продолжительность среднесрочного хранения 12 мес

Рисунок 1. Коллекция барбариса *in vitro*

Полученная коллекция *in vitro* также послужила основой для создания криобанка апикальных меристем барбариса при температуре –196 °С. Методика криоконсервации для барбариса основана на методике, оптимизированной для яблони, и отличается небольшими модификациями [14, 18]. Процент регенерации меристем после криоконсервации составляет 60–80 %.

Для создания криобанка также использовали семена барбариса, которые заложили на долгосрочное хранение при температуре –20 °С. Способность семян к прорастанию после хранения в течение 2 лет в среднем составляет 86,7 %. Лабораторная всхожесть семян барбариса круглоплодного сразу после сбора и после хранения в течение 2 лет при температуре –20 °С показана на рисунке 2. Всхожесть семян после 2 лет хранения при пониженной температуре в среднем составляет 80,9 %, это практически соответствует проценту прорастания свежесобранных семян 81,0 % [15]. Статистически достоверной разницы в проценте всхожести между формами барбариса круглоплодного также не выявлено.



*a, b* — значения, которые достоверно не различаются между собой при  $p < 0,05$ .

Контроль — всхожесть семян барбариса сразу после сбора;

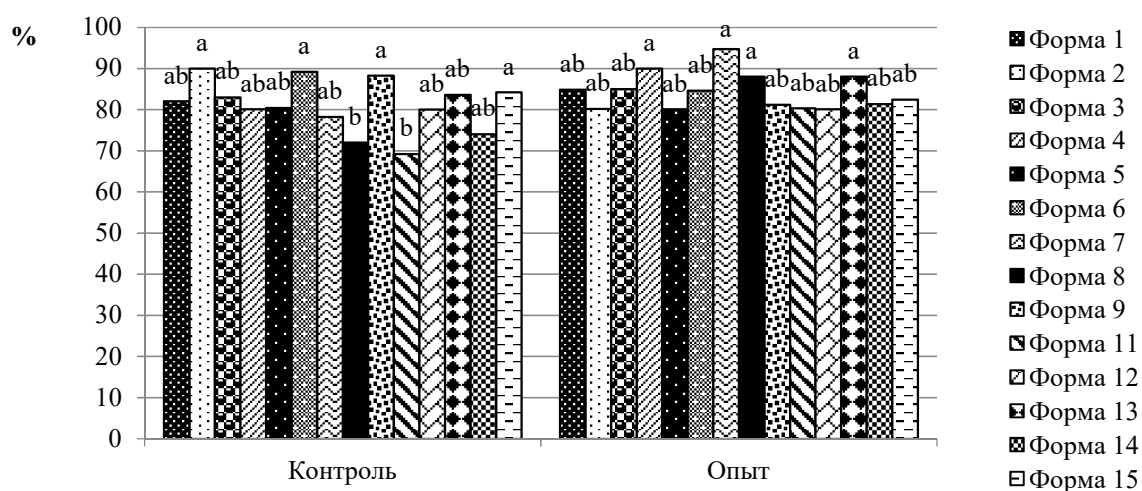
опыт — всхожесть семян барбариса после хранения в течение 2 лет при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

Рисунок 2. Лабораторная всхожесть семян барбариса круглоплодного

Семена 14 форм барбариса круглоплодного, 2 форм барбариса продолговатого, 1 формы барбариса сибирского и 1 формы барбариса Тунберга были заложены на долгосрочное хранение в криогенный банк при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Всхожесть семян после размораживания колеблется в пределах 80–95 % (рис. 3, 4).

Процент прорастания семян барбариса круглоплодного после 2-летнего хранения при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  в среднем составляет 84,4 %, что несколько выше процента прорастания свежесобранных семян 81,0 % [15]. В результате чего можно сделать вывод, что хранение при сверхнизкой температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  положительно сказывается на прорастании семян барбариса круглоплодного. Однако статистической разницы в проценте всхожести между формами барбариса круглоплодного не выявлено.

Также не замечено статистической разницы всхожести 2 форм барбариса продолговатого, барбариса сибирского и барбариса Тунберга сразу после сбора и после 2-летнего хранения при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Однако всхожесть семян барбариса продолговатого формы 2, барбариса сибирского и барбариса Тунберга после 2-летнего хранения при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  в среднем составляет 84,1 %, что значительно выше среднего процента всхожести семян сразу после сбора этих же образцов — 74,5 %.

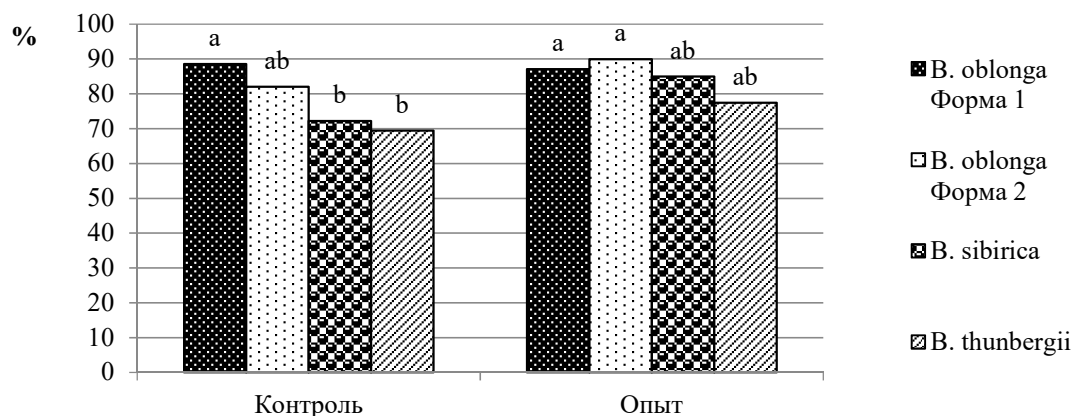


*a, b* — значения, которые достоверно различаются между собой при  $p < 0,05$ .

Контроль — всхожесть семян барбариса сразу после сбора;

опыт — всхожесть семян барбариса после хранения в течение 2 лет при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$

Рисунок 3. Лабораторная всхожесть семян барбариса круглоплодного



*a, b* — значения, которые достоверно различаются между собой при  $p < 0,05$ .

Контроль — всхожесть семян барбариса сразу после сбора;

опыт — всхожесть семян барбариса после хранения в течение 2 лет при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$

Рисунок 4. Лабораторная всхожесть семян четырех видов барбариса

В результате проведенной работы по созданию криобанка семян барбариса нами отмечено, что не выявлена статистически достоверная разница всхожести свежесобранных семян и семян после хранения при температурах  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Однако процент всхожести семян, хранившихся при низких температурах, несколько выше. Соответственно замораживание семян при низкой и сверхнизкой температурах является надежным способом для хранения генетического материала видов барбариса.

#### Заключение

Современный мир несет различные угрозы всем растениям, включая те, что крайне важны в качестве пищевых ресурсов. Данная работа посвящена актуальной теме — сохранению генетического материала ценных дикорастущих видов барбариса, в том числе и исчезающих видов, занесенных в Красную книгу. Созданный криобанк семян барбариса так же, как и любые другие генетические банки растений, позволит сохранить разнообразие растений, повысить вероятность восстановления культур после глобальных катастроф и предоставит важный источник материалов для ученых. Созданные коллекции образцов можно использовать для выведения более продуктивных культур и видов, стойких к болезнетворным организмам и изменениям климата.

Работа выполнена в рамках проекта 1783/ГФ4 — «Разработка технологии криогенного сохранения гермоплазмы ценных видов и форм барбариса — источника биологически активных веществ». По бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований».

#### Список литературы

- 1 Флора Казахстана: в 9-ти т. — Т. 3 / под ред. Н.В. Павлова. — Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1960. — 459 с.
- 2 Gaur P. *In vitro* radical scavenging activity and antimicrobial potential of *Berberis asiatica* Roxb. ex DC. fruit extracts in four different processed forms / P. Gaur, Sh. Bhatia, H.Ch. Andola, R.K. Gupta // Indian Journal of Traditional Knowledge. — 2017. — Vol. 16(4). — P. 706–713.
- 3 Sabir S. Phytochemical and antioxidant studies of *Berberis lyceum* / S. Sabir, K. Tahir, N. Rashid, S. Naz, B. Masood, M.A. Shah // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2013. — Vol. 26 (6). — P. 72–78.
- 4 Abd E. *In vitro* biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects / E. Abd, A.E. Wahab, D.A. Ghareeb, E.E. Sarhan, M.M. Abu-Serie, M.A. El Demellawy // BMC Complement Altern Med. — 2013. — Vol. 13(1), No. 218. — P. 13-18.
- 5 Simões Pires E.N. Berberine was neuroprotective against an *in vitro* model of brain ischemia: Survival and apoptosis pathways involved / E.N. Simões Pires, R.L. Frozza, J.B. Hoppe, M. Menezes Bde, C.G. Salbego // Brain Res. — 2014. — Vol. 1557. — P. 26–33.
- 6 Hemmati M. Effects of an ethanolic extract of *Berberis vulgaris* fruits on hyperglycemia and related gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats / M. Hemmati, E. Serki, M.G. holami, R. Hoshyar // Clinical Phytoscience. — 2017. — Vol. 2(3). — P. 2–7.
- 7 Красная книга Казахстана. Т. 2. Растения. — 2-е изд. перераб. и доп. — Астана: ТОО АртPrintXXI, 2014. — 452 с.

- 8 Begenov A. Assessment of the Current Status of Populations of Kazakh Rare Plants (*Berberis iliensis* M. Pop.) / A. Begenov, N. Mukhitdinov, A. Ametov, S. Nazarbekova, A. Kuatbayev, B. Tynybekov, K. Abidkulova, A. Ydyrys // World Applied Sciences Journal. — 2014. — Vol. 30 (1). — P. 105–109.
- 9 Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity / F. Engelmann // *In vitro Cellular & Developmental Biology — Plant*. — 2011. — Vol. 47, No. 1. — P. 5–16.
- 10 Keller E.R.J. Cryopreservation for plant genebanks — a matter between high expectations and cautious reservation / E.R.J. Keller, A. Kaczmarczyk, A. Senula // *CryoLetters*. — 2008. — No. 1. — P. 53–62.
- 11 Lynch P.T. Climate change: the role of *ex situ* and cryo-conservation in the future security of economically important, vegetatively propagated plants / P.T. Lynch, E.E. Benson, K. Harding // *J. Horticultural Science & Biotechnology*. — 2007. — Vol. 82, No. 2. — P. 157–160.
- 12 Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пос. для биол. спец. вузов / Г.Ф. Лакин. — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
- 13 SYSTAT (2007) SYSTAT 12.0, SYSTAT Software, Inc, San Jose, CA, pp. Statistics software.
- 14 Romadanova N. Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit / N. Romadanova, S. Kushnarenko, L. Karasholakova // *In vitro Cellular & Developmental Biology*. — 2017. — Vol. 53 (4). — P. 382–393.
- 15 Ромаданова Н.В. Введение в культуру *in vitro* дикорастущих видов *Berberis* флоры Казахстана и Узбекистана / Н.В. Ромаданова, С.А. Мишустина, Л.Н. Карашолакова, М.М. Аралбаева, Ф.Д. Кабулова, К.Т. Абидулова, С.В. Кушнарченко // *Вестн. Казахского нац. ун-та. Сер. биол.* — 2015. — № 3 (65). — С. 346–354.
- 16 Ромаданова Н.В. Создание коллекции *in vitro* дикорастущих видов *Berberis* sp. / Н.В. Ромаданова, С.А. Мишустина, Л.Н. Карашолакова, М.М. Аралбаева, И.Р. Рахимбаев, С.В. Кушнарченко // *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада*. — 2016. — № 121. — С. 69–76.
- 17 Ромаданова Н.В. Оптимизация микроклонального размножения барбариса / Н.В. Ромаданова, И.А. Махмутова, Л.Н. Карашолакова, А.А. Христенко, С.В. Кушнарченко // *Биотехнология. Теория и практика*. — 2017. — № 2. — С. 47–55.
- 18 Kushnarenko S. Cold acclimation improves regrowth of cryopreserved apple shoot tips / S. Kushnarenko, N. Romadanova, B. Reed // *Cryo Letters*. — 2009. — Vol. 30(1). — P. 47–54.

Н.В. Ромаданова, Л.Н. Карашолакова, И.А. Махмутова,  
М.Ю. Ишмуратова, Л.А. Копыткова, Ф.Д. Кабулова, С.В. Кушнарченко

## Бөріқарақаттың кейбір түрлерінің генетикалық материалын криобанкте сақтау

*In vitro* культураны енгізу және микроклонды көбейту жұмыстарының нәтижесінде бөріқарақаттың 41 үлгісінен тұратын *in vitro* өсімдіктер коллекциясы жасалды. Алынған *in vitro* коллекция 4 °С температурада орта мерзімге сақтауға (суықта сақтауға) қойылды. Суықта сақтаудың максималды ұзақтығы 12 айды құрайды. Бөріқарақаттың тұқымдары –196 °С және –20 °С температураларға криобанкке салынды. Төмен және өте төмен температураларда 2 жыл сақталғаннан кейін тұқымдардың өнгіштік қабілеті 86,7 % құрады. Бөріқарақаттың барлық зерттелген үлгілерінде жаңадан жиналған және –20 °С және –196 °С температурада сақталған тұқымдардың өнгіштігі арасында статистикалық айқын айырмашылық анықталмады. Төмен температураларда сақталған өнгіштігі жаңадан жиналған тұқымдардың өнгіштігінен біршама жоғары екендігі белгілі болды. Бөріқарақат тұқымдарынан құрылған криобанкі бұл құнды және дәрілік өсімдіктің генетикалық материалын сенімді сақтауға қызмет етеді.

*Кілт сөздер:* *Berberis*, тұқымдар, коллекция *in vitro*, криобанк, халық медицинасы.

N.V. Romadanova, L.N. Karasholakova, I.A. Makhmutova,  
M.Yu. Ishmuratova, L.A. Kopytkova, F.D. Kabulova, S.V. Kushnarenko

## Preservation of barberry (some species) genetic material in a cryobank

*In vitro* collection of six barberry species (*Berberis amurensis*, *B. iliensis*, *B. integerrima*, *B. oblonga*, *B. sibirica*, *B. sphaerocarpa* and *B. thunbergii*) consisting of 41 accessions has been established. The *in vitro* collection maintained at 4 °C for medium-term storage (cold storage) with a 12-month interval for transfers to fresh media. Barberry seeds are preserved in a cryobank at temperatures: –196 °C and –20 °C. The ability of seeds to germinate after storage for 2 years at low and ultra-low temperatures on average for accessions is 86,7 %. No statistically significant difference in the germination of freshly picked seeds and seeds after storage was detected at temperatures: –20 °C and –196 °C in all barberry accessions studied. It is noted that the percentage of germination of seeds stored at low temperatures is slightly higher than the percentage of germination of freshly picked seeds. The created cryobank of barberry seeds will serve as a reliable storage of the genetic material of this valuable food and medicinal plant.

*Keywords:* *Berberis*, seeds, *in vitro* collection, cryobank, ethnoscience.

## References

- 1 Pavlov, N.V. (Eds.). (1960). *Flora Kazakhstan [Flora of Kazakhstan]*. Alma-Ata: Izdatelstvo AN KazSSR [in Russian].
- 2 Gaur, P., Bhatia, Sh., Andola, H.Ch., & Gupta, R.K. (2017). *In vitro* radical scavenging activity and antimicrobial potential of *Berberis asiatica* Roxb. ex DC. fruit extracts in four different processed forms. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 16, 4, 706–713.
- 3 Sabir, S., Tahir, K., Rashid, N., Naz, S., Masood, B., & Shah, M.A. (2013). Phytochemical and antioxidant studies of *Berberis lyceum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 6, 72–78.
- 4 Abd, E., Wahab, A.E., Ghareeb, D.A., Sarhan, E.E., Abu-Serie, M.M., & El Demellawy, M.A. (2013). *In vitro* biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anti-cancer effects. *BMC Complement Altern Med*, 13, 1: 218, 13–18.
- 5 Simões Pires, E.N., Frozza, R.L., Hoppe, J.B., Menezes Bde, M., & Salbego, C.G. (2014). Berberine was neuroprotective against an *in vitro* model of brain ischemia: Survival and apoptosis pathways involved. *Brain Res*, 1557, 26–33.
- 6 Hemmati, M., Serki, E., Gholami, M., & Hoshyar, R. (2017). Effects of an ethanolic extract of *Berberis vulgaris* fruits on hyperglycemia and related gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical Phytoscience*, 2, 3, 2–7.
- 7 *Krasnaia kniha Kazakhstan. Rastenii [Red book of Kazakhstan. Plants]* (2014). Vol. 2. Astana: ArtPrintXXI [in Russian].
- 8 Begenov, A., Mukhitdinov, N., Ametov, A., Nazarbekova, S., Kuatbayev, A., Tynybekov, B., Abidkulova, K., & Ydyrys, A. (2014). Assessment of the Current Status of Populations of Kazakh Rare Plants (*Berberis iliensis* M. Pop.). *World Applied Sciences Journal*, 30, 1, 105–109.
- 9 Engelmann, F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology — Plant*, 47, 1, 5–16.
- 10 Keller, E.R.J., Kaczmarczyk, A., & Senula, A. (2008). Cryopreservation for plant genebanks — a matter between high expectations and cautious reservation. *CryoLetters*, 1, 53–62.
- 11 Lynch, P.T., Benson, E.E., & Harding, K. (2007). Climate change: the role of *ex situ* and cryoconservation in the future security of economically important, vegetatively propagated plants. *J. Horticultural Science & Biotechnology*, 82, 2, 157–160.
- 12 Lakin, G.F. (1990). *Biometriia [Biometrics]*. Moscow: Vysshiaia shkola [in Russian].
- 13 SYSTAT (2007) SYSTAT 12.0, SYSTAT Software, Inc, San Jose, CA, pp. Statistics software.
- 14 Romadanova, N., Kushnarenko, S., & Karasholakova, L. (2017). Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 53, 4, 382–393.
- 15 Romadanova, N.V., Mishustina, S.A., Karasholakova, L.N., Aralbaeva, M.M., Kabulova, F.D., Abidkulova, K.T., & Kushnarenko, S.V. (2015). Vvedenie v kulturu *in vitro* dikorastushchikh vidov *Berberis* flory Kazakhstan i Uzbekistana [Introduction to the *in vitro* culture of wild *Berberis* species of Kazakhstan and Uzbekistan flora]. *Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya — Bulletin of KazNU, biological series*, 3, 65, 346–354 [in Russian].
- 16 Romadanova, N.V., Mishustina, S.A., Karasholakova, L.N., Aralbaeva, M.M., Rakhimbaev, I.R., & Kushnarenko, S.V. (2016). Sozdanie kollektzii *in vitro* dikorastushchikh vidov *Berberis* sp. [Creating an *in vitro* collection of wild *Berberis* sp.]. *Bulleten Hosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada — Bulletin of the State Nikitsky Botanical Garden*, 121, 69–76 [in Russian].
- 17 Romadanova, N.V., Makhmutova, I.A., Karasholakova, L.N., Khristenko, A.A., & Kushnarenko, S.V. (2017). Optimizatsiia mikroklonalnogo razmnozheniia barbarisa [Optimization of barberry micro propagation]. *Biotekhnologiya. Teoriia i praktika — Biotechnology. Theory and practice*, 2, 47–55 [in Russian].
- 18 Kushnarenko, S., Romadanova, N., & Reed, B. (2009). Cold acclimation improves regrowth of cryopreserved apple shoot tips. *Cryo Letters*, 30, 1, 47–54.